Alguns fatos que interessam á epidemiolojia da molestia de CHAGAS.

por

MAGARINOS TORRES.

Condições muito propicias a buscas tão curiosas como as que se prendem ao conhecimento do ajente transmissor da molestia de CHAGAS no campo de sua ação malfazeja, oferecia a zona em que estivemos.

Constituia nela centro de estudo a estação de Lassance (E. F. Central do Brazil). Por excursões e remessa de material pudemos colher dados parasitolojicos sobre a vasta rejião colocada, de um lado e do outro do Rio das Velhas e compreendida entre os rios Jequitahy (afluente do S. Francisco) ao N., e S. Francisco e Paraopéba a O. e SO. A zona explorada na direção E. vai até Diamantina e logarejos proximos (Mendanha, Rio Manso). Pudemos ainda ajuizar do que existe nas rejiões proximas ás cidades de S. Francisco, Montes-Claros, Grão-Mogol e na Vila Brazilia, situadas fóra desses limites.

Papel das especies de triatomas mais comuns, como veiculadores da molestia.

Nessa vasta rejião, toda ela habitada, as casas ou *cafuas* de paredes de barro grosseiramente amassado e cobertas de palha da palmeira *burity* ou de *sapê*, são muito esparsas; nelas os hemipteros das especies *Triatoma megista* e *T. sordida*, sobretudo os da primeira, existem constantemente e em quantidade colossal.

Não representam papel identico, como hospedeiros transmissores, essas duas especies: ao passo que com dificuldade se encontram individuos de *T. megista* que não contenham flajelados, são assaz raros os individuos de *T. sordida*, mesmo colhidos em *cafuas* onde os da outra especie são intensamente parazitados, que os apresentam. Considerando o processo de infeção do invertebrado, talvez isso se possa compreender como adaptação mais antiga do *T. cruzi* á *T. megista*, especie estritamente domiciliar, pois é sabido que a *T. sordida* é um hemiptero em via de adaptação á casa do homem.

Quanto á natureza dos flajelados que parasitam os barbeiros das *cafuas*, devemos lembrar que CHAGAS disse não apresentarem eles diferença morfolojica alguma apreciavel dos do tubo dijestivo de triatomas infetadas no laboratorio.

Apezar de termos procurado verificar flajelados saprofitas de triatomas e estranhos

ao ciclo evolutivo do *T. Cruzi.*, não conseguimos resultado positivo. O fato era digno de atenção, em virtude da frequencia de infeções naturais de hemipteros por flajelados. No caso porém da *T. megista* e *T. sordida*, na rejião em que trabalhamos ficou bem evidenciada a ausencia de infeção natural, representando sempre os flajelados, observados no seu tubo dijestivo, estádios evolutivos do *T. Cruzi*, morfolojicamente identicos aos parasitos obtidos nas infeções dos hematofagos no laboratorio. Acrece, ainda, que a *T. sordida*, no seu habito normal, que é a plena natureza, ([1]) não é encontrada parasitada.

Relação entre a edade do inseto e o seu parasitismo. Causa do aparecimento sazonal das infeções agudas da molestia.

Efetuámos em material tão rico, pesquizas sistematicas, tendentes a estabelecer as condições de infeção dos barbeiros na natureza.

Assim, a edade do inseto, segundo verificámos, tem relação direta com a infeção pelos flajelados: em *cafuas* onde todos os adultos eram parasitados, as ninfas não o eram de modo tão constante, a infeção era mais escassa nas larvas de ultimas mudas, e rarissima ou completamente nula nas larvas de primeiras edades. Os *barbeiros* só se infetam após correrem numerosas possibilidades de infeção, isto é, nos ultimos estádios larvarios, ou nas edades de ninfa e imajem. Tambem por observações que fizemos sobre larvas de primeiras edades colhidas em *cafua*, podemos assegurar que desde esses estadios primordiaes, na natureza, elas são hematofagas; o canibalismo, tal como vimos no laboratorio fazer a *T. sordida*, parece ser excepcional na condição natural.

O que dizemos encontra sua justificativa em observações multiplas; damos adiante o protocolo de algumas (Obs. I e II).

(1) O Dr. A. Neiva, em informação que deverá publicar sobre a biolojia das triatomas, com a nossa colaboração, informará a respeito

Sabido isso, é achada facil explicação para o aparecimento sazonal das infeções agudas da molestia. As creanças nacidas de pouco, como desde o inicio dos estudos observara CHAGAS, mais frequentemente vinham ao consultorio, tendo manifestações de infeção recente pelo *T. Cruzi*, nos mezes quentes do ano; os primeiros casos agudos, que apareciam em Setembro, eram relativamente muito abundantes em Dezembro e Janeiro, e muito escassos ou inexistentes nos mezes frios, a partir de Maio.

Ora, justamente os *barbeiros* atinjem os seus estádios finaes de desenvolvimento nesses mezes quentes, sendo eles, então nas *cafuas*, quasi que exclusivamente ninfas e adultos. Assim sendo, maiores riscos se formarão para o vertebrado nessa ocasião, pois maior será então o numero de insetos capazes de infetar.

Com o que dissemos e é evidente, nada tem a vêr o fato, que recordamos, do ciclo do *T. Cruzi* não depender do estádio evolutivo do inseto, tendo sido verificado, por experiencias cuidadosas, que mesmo na edade de larvas de 1ª e 2ª mudas, o *barbeiro* é capaz de infetar pela picada o vertebrado.

Processo de infeção dos barbeiros.

Uma das noções mais interessantes a ser adquirida, não só pelo interesse epidemiolojico que encerra, como por indicar faze da maior importancia no ciclo evolutivo do *T. Cruzi*, era a do processo de infeção dos barbeiros.

Foi nossa constante preocupação esclarecer a questão conexa do estádio inicial do tripanozomo no hematofogo, e do processo de infeção dele.

A hipotese que ligava a infeção das triatomas das *cafuas* a uma condição dos vertebrados, nelas existentes, foi repudiada pelos observadores que inicialmente do assunto se ocuparam baseados em pesquizas negativas, constantes da inoculação do sangue dos vertebrados a animais sensiveis e ausencia persistente de tripanozomos no sangue desses vertebrados, examinado entre lamina e laminula.

Quanto a idea de que a infeção das larvas se possa fazer pelos excrementos de hemipteros já infetados, seria fato interessante para a questão da orijem dos hemoflajelados. Seria assim o *T. Cruzi* um flajelado que, habitando o sangue de vertebrado e sendo parasito de ação patojenica extremamente acentuada, gosaria ainda da faculdade de se propagar de um hospedeiro intermediario á outro da mesma especie.

Mas tal nunca foi provado, posto que as condições em que nos colocámos em certas experiencias (v. Exp. I e II), e em que observamos noutras (v. Obs. III), facilitassem esse processo. Ao contrario, observações taes parecem excluirem-n'o em absoluto.

As triatomas não se infetavam, pois, pelo contato com fezes contaminadas.

Outro haveria de ser o seu modo de infeção. Representaria ai fator importante, o canibalismo que, no laboratorio, com frequencia, é praticado por larvas novas de *T. megista* e *T. sordida* sobre larvas, ninfas e adultos de *T. megista* e *T. sordida?* Assim acreditámos um instante, mas experiencias adequadas (v. Exp. III e IV) vieram desmentir formalmente a suposição. Parece-nos, apezar disso, oportuno relatar certas informações sobre o canibalismo.

Informações sobre o canibalismo.

O canibalismo entre hemipteros hematofagos foi aqui observado por MACHADO no laboratorio de Lassance. Viu larvas nacidas de pouco, de *T. megista*, ao fazerem a primeira alimentação em vertebrado (cobaia, frango, pombo) serem sugadas por companheiras de tubo. Efetuavam elas, assim, indiretamente o hematofajismo, enchendo-se do sangue do vertebrado, que obtinham por punção do trato dijestivo de outra larva que sugava o animal. Mais tarde, tivemos oportunidade de verificar que o canibalismo era muito frequentemente praticado na especie *T. sordida*: larvas dessa especie, nacidas em reservatorios onde eram presentes ninfas e adultos de *T. megista* e *T. sordida*, apareciam, ao cabo de alguns dias, com o abdome distendido; com efeito, o ventriculo quilifico distendera-se fortemente sob a ação do liquido que servira de alimento. O fato, nessas condições artificiaes, é observado em larga escala, não expressando acidente excepcional. Assim, de uma feita, tendo deixado 48 larvas, vindas do ovo e famintas, em contato com 5 ninfas e adulto de *T. megista*, ao cabo de alguns dias 42 larvas, ou seja 87,4 %, haviam feito o canibalismo, sendo que a distensão do abdome, ás vezes unilateral, era consideravel em 20 delas; apenas 6 se abstiveram de refeição canibal.

Sob nossas vistas, mais tarde, conseguimos que larvas de *T. sordida* efetuassem o canibalismo; elas quasi sempre, após tentativas, introduziam o rostro na membrana articular, constituida por quitina relativamente mole, que separa os segmentos abdominais; outras vezes subiam ao dorso da ninfa e aì colocadas, puncionavam a face dorsal do abdome ao nivel das membranas articulares. Os adultos eram quasi sempre sugados ao nivel dos intersticios articulares das patas. A refeição, que só termina após a repleção, por vezes consideravel, do ventriculo quilifico, é feita mais rapidamente quando a ninfa fez hematofajismo não muito remoto, condição em que o sangue do inseto é abundante; nas ninfas que ha muito não se alimentam (a face dorsal do abdome apresenta-se então muito excavada) e nas quaes o sangue é pouco abundante, são despresadas pelas larvas canibais.

O liquido que se vê as larvas absorverem de ninfas que recentemente se encheram de sangue á repleção, é limpido, lijeiramente amarelado, sendo evidentemente o sangue circulante do inseto; nunca vimos uma larva puncionar o trato dijestivo da ninfa, o que traria uma explicação simplista á transmissão

da infeção do trato dijestivo dos insetos por flajelados. Barbeiros na edade de jovens larvas, é certo, como viu MACHADO, podem puncionar o trato dijestivo de outras larvas, mas fazem-no quando o ventriculo quilifico do inseto vitima torna-se distendido pelo sangue ainda não coagulado que ele vae retirando do vertebrado; ao contrario, no canibalismo verdadeiro, talvez porque o sangue, passado algum tempo após a refeição hematica, no ventriculo quilifico coagulou-se, a larva canibal utilisa, como alimento, o liquido da cavidade geral do inseto. Repetimos que, no ato canibal, efetuado exclusivamente por larvas de primeira edade e de segunda edade, nunca o trato dijestivo do inseto vitima, exceptuadas as condições particulares já referidas, é atinjido; será isso devido á impossibilidade ou repugnancia da larva de alimentar-se do conteudo do ventriculo quilifico da ninfa, que é uma massa escura, compacta, rezistente, encontrando como sucede, facilidade de utilizar-se do sangue circulante do inseto? Tambem no caso interessante, que citamos abaixo, de larvas nacidas e nunca alimentadas em vertebrado, exercerem entre si o canibalismo, o alimento só pode ser constituido pelo liquido da cavidade geral do inseto.

Observação onde se vê que o canibalismo se dá entre larvas da mesma edade, e que insetos que nunca absorveram sangue são susceptiveis de fornecer alimento ao individuo canibal.

— Ovos de *T. sordida* em vesperas de desalagamento, foram colocados em tubo de vidro (9 — Maio 914).

A 3 de Julho 914 o tubo de vidro continha, ao lado de ovos desalagados e larvas mortas. 6 larvas de *T. sordida* que haviam feito alimentação; o aspeto do abdome é muito carateristico, após a refeição canibal, lembrando uma empôla de paredes finas, roseo-amareladas, contendo liquido limpido.

Quanto ao que se passa na natureza, tendo podido observar as condições das larvas novas (de 1ª e 2ª edades) nas cafuas da rejião (v. Obs. I e II), achamos que o canibalismo, nessas condições, é absolutamente excepcional. No laboratorio ele é muito mais frequentemente praticado na especie *T. sordida*, que na *T. megista*; talvez seja isso atribuivel á maior rusticidade dessa especie, referimo-nos ao canibalismo verdadeiro; o hematofajismo indireto na *T. megista*, era porém, observado com frequencia. Terá ele importancia na natureza? Teoricamente até, podia mesmo explicar plenamente a transmissão da infeção; bastava apenas que fosse praticado sobre 1 larva infetada.

Tal se não dá; com efeito, só se efetua entre larvas muito jovens, e sabemos que na natureza são elas, justamente, indenes de infeção; além disso é pouco provavel que se efetue com a mesma frequencia na condição natural, onde todos os barbeiros encontram campo mais amplo para a colheita de alimento, que o de um tubo de vidro e se essas razões não bastassem, diriamos que o processo de infeção é outro bem diverso, como se verá e que só por si explica abundantemente a larga infeção dos artropodes.

Coprofajismo.

As fezes das Triatomas sofrem rapidamente a dissecação, quando a observação não é feita em camara humida (vidro munido de rolha de algodão).

Nunca vimos barbeiros sugarem fezes (v. Exp. I), sendo que o copofrajismo, assinalado por BRUMPT em *Rhodnius prolixus*, não é praticado pelas especies de *Triatoma* com que habitualmente lidavamos — *T. megista* e *T. sordida*. Disso podemos dar firme atestado.

Assim pois, como demonstrámos, nem o canibalismo, nem a contaminação pelas fezes são capazes de explicar a infeção das triatomas. O coprofajismo não póde, tambem, ser invocado.

Restam apenas as duas hipotezes se-

guintes—a da transmissão hereditaria da infeção, e a infeção pelos vertebrados das cafuas.

Desde o inicio dos estudos, CHAGAS verificou que a infeção hereditaria das triatomas não se efetuava. Dividindo uma coleção de larvas nacidas dos ovos de determinada postura, em duas partes e, alimentando uma delas em animal infetado e a outra em animaes indenes, em multiplas experiencias verificou a ausencia constante de flajelados nestas e a presença de parasitos naquelas. Essa ocorrencia foi em larga escala confirmada pelos que, mais tarde se ocuparam do asunto. Frequentemente criámos, alimentando-os em animais indenes, até os estádios de ninfa e imajem, exemplares de *T. megista* e *T. sordida* nacidos no laboratorio de ovos de barbeiros infetados, sem que o conteudo dos respetivos tubos dijestivos nos tivesse mostrado, em qualquer tempo, a presença de flajelados.

Passando os olhos pela literatura, vemos que a transmissão hereditaria nos insetos, da infeção por flajelados, é contestada por quasi todos os autores que se puderam colocar em boas condições de observação.

PATTON (1903) acha muito duvidoso que o flajelado por ele descrito sob o nome de *Crithidia gerridis* e que parasita varios hemipteros aquaticos—*Gerris fossarum*, *Microvelia* sp. e diferentes especies de *Perittopus* se transmita por herança, pois nunca os encontrou em outro lugar que não o tubo dijestivo. Como são insetos entomofagos, acha que essa e outras circunstancias mais fortuitas, devem ser invocadas para explicar a transmissão da infeção. Mais tarde (1909), o mesmo autor nega em absoluto a transmissão hereditaria no flajelado *Herpetomonas lygaei* PATTON, que parasita o hemiptero *Lygæus militaris* FABR.

Oferecendo esse material circunstancias favoraveis á experimentação, ele conseguiu demonstrar que as ninfas nacidas de ovos de hemipteros infetados nunca eram parasitadas, quando mantidas isoladas, ao passo que no fim de uma noite de contato com hemipteros infetados, adquiriam em larga percentajem a infeção. Apurou que esta era devida a que as ninfas, quando sugavam folhas e brotos depostos no vaso onde se acháva o *Calotropis gigantea*, muitas vezes faziam-no em lugares sujos de fezes ainda fluidas. Mais tarde (1909), PATTON declara que a *Crithidia tabani*, parasito de dois tabanideos hematofagos africanos—*Tabanus hilarius* e *Tabanus* sp., é transmitida por contaminação acidental e não por via hereditaria, pois mutucas creadas no laboratorio são livres de infeção.

ANNIE PORTER (1909) acha que não ha herança na infeção de *Gerris paludum* por *Crithidia gerridis*. Os adultos deste hemiptero, quasi todos infetados, têm o habito de descansar sobre vejetaes situados á marjem das coleções aquosas; quando espantados, fojem emitindo fezes; as jovens ninfas que dai a pouco vêm á cata de cogumelos existentes á superficie das folhas, podem facilmente se contaminar. Flajelados da especie *Herpetomonas jaculum* foram vistos por Miss PORTER (1909) nos ovarios de *Nepa cinerea*, mas pareceram-lhe individuos em via de dejeneração; nega a herança e pensa que particularidades biolojicas multiplas (coprofajismo, entomofajismo) explicam de sobejo, a contaminação.

ROUBAUD (1912) verifica que a herança da infeção não se dá para as moscas *Pycnosoma putorium*, que são infetadas na proporção de 100 % por flajelados diversos —*Herpetomanas* sp., *Leptomonas soudanensis* ROUB., *Cercoplasma mirabilis* ROUB..

Moscas obtidas de posturas lavadas, de outras infetadas, nunca apresentaram flajelados, examinadas do 2º ao 25º dia de desalagamento. FANTHAM (1912) para *Herpetomonas pediculi* de *Pediculus vestimenti* e Miss PORTER (1914) para o flajelado parasito do molusco—*Patela vulgata*, supõem a transmissibilidade do parasitismo, por contaminação.

Para flajelados que parasitam outros invertebrados, a transmissão hereditaria é afirmada por uns autores e contestada por outros.

Foram SWINGLE e depois Miss PORTER os primeiros que a admitiram no pa-

rasitismo de *Melophagus ovinus* por *Crithidia melophagi*, FLU.

PATTON (1909) declara categoricamente que duas especies de *Crithidia* que estudou, parasitos sucessivamente de carrapato e de sanguesuga *(Clepsina* sp.), só se transmitem hereditariamente. Assim, sanguesugas nacidas de pouco, apresentam, alguns dias após a 1ª alimentação, em 80 a 90 % dos exemplares, rica infeção. Tendo prometido relatar, mais tarde, experiencias exaustivas sobre a transmissão, assim como descrever esses flajelados, o autor não o fez, até hoje.

Muito a proposito e como exemplo ilustrativo do quanto, ás vezes, é dificil de ajir em conciencia, evitando todas as causas de erro, julgamos lembrar que a infeção hereditaria, que era admitida como a unica explicação para a infeção de *Melophagus ovinus* pela *Crithidia melophagi* foi completamente abandonada depois que WOODCOCK conseguiu, multiplas vezes, do sangue dos carneiros da Europa, a cultura de um tripanosomo e estabeleceu assim definitivamente a orijem sanguinea da *Crithidia melophagi*.

Miss PORTER, em 1910, chegou mesmo a declarar que assistira, esmagando o animal entre lamina e laminula, á penetração dos flajelados nos ovos — observação contestada, em virtude das condições em que foi feita por CHATTON e DELANOE em 1912.

Examinemos, agora, a ultima hipoteze: a contaminação dos barbeiros é função esclusiva dos vertebrados que os alimentam.

O processo a seguir para a verificação dessa hipoteze era muito simples e puzemol-o cedo em execução.

Com efeito, facilmente se poderia obter elementos seguros para sobre isso decidir. Desde que, a infeção hereditaria não se efetua, era possivel alimentar em todos os vertebrados (homem e animais domesticos) de determinada cafua de rejião, onde os barbeiros habitualmente fossem infetados por flajelados, triatomas nacidas no laboratorio e absolutamente indenes de parasitismo. Foi o que fizemos na experiencia que abaixo relatamos e na qual aproveitámos uma cafua das proximidades de Lassance (cafua da *Simplicia*). Conheciamos de longa data, por constituir habitualmente fonte de material, as condições dos invertebrados nela. Os barbeiros adultos e as ninfas mostravam-se, na sua quasi totalidade, infetados por flajelados.

Parece-nos, essa experiencia bastante importante, pois talvez rezolva, de modo definitivo a questão que estamos ventilando.

Experiencia

pela qual se vê que os vertebrados das choupanas (cafuas) gosam do poder de infetar barbeiros neles alimentados.

A infeção dos barbeiros das choupanas por flajelados é de orijem sanguinea.

A 2 Janeiro 1915 visitámos a cafua da *Simplicia* (beira do S. Gonçalo, Lassance), que tem fornecido muito material. Tinhamos verificado que as *T. megista* adultas dai eram infetadas em alta percentajem; as ninfas em menor percentajem; as larvas nos ultimos estádios muito raramente; as larvas de 1ª e 2ª edades não se mostravam contaminadas.

Os vertebrados que a habitavam eram 5 homens, 3 cães e 2 gatos. Segundo informações, os cães habitualmente dormiam fóra de casa, de modo que os vertebrados que mais frequentemente forneciam alimentação aos barbeiros eram os homens e os gatos.

Levei acondicionados de modo conveniente em tubos de vidro, lotes de 10 larvas de *T. megista*. A maioria era de 2ª e 3ª edades, raras maiores e quasi ninfas, nacidas no laboratorio mais ou menos em Junho de 1914 e até então alimentadas em pombo. Fil-os sugar, até repleção completa todos os vertebrados acima citados, com exceção de uma creancinha de peito, que ha pouco residia na casa (1 mez) e que não podia ser responsabilizada pela infeção dos barbeiros, que, reconhecidamente, de muito são infetados.

Os habitantes eram:

— Simplicia — 42 anos — sinaes clinicos de forma cardiaca da molestia de CHAGAS;

— Anastacia — 17 anos, sua filha — aparentemente gosa de boa saude;

— Tertuliano — 25 anos, seu filho — caso

tipico da forma cardiaca da molestia de CHAGAS;

— Petrolina, 23 anos, sua nora.

Os animais eram aparentemente sãos; um gato e um cão eram novos, os outros, animaes velhos, creados em casa.

O sangue de todos os vertebrados examinado, na ocasião, a fresco, entre lamina e laminula, não apresentava flajelados.

A cafua é muito velha; foi construida ha cerca de 20 anos e sempre habitada pela mesma gente, tendo sofrido reformas parciaes.

Os barbeiros colocados em tubos de vidro rotulados, eram, depois, alimentados regularmente em pombo. Levando em conta a influencia provavel do tempo e do numero de refeições sobre a multiplicação dos flajelados no tubo dijestivo, rezolvemos sacrificar parceladamente cada lote.

—CÃO Nº 1—

Sacrifiquei 6 larvas, 1 mez e meio após a alimentação nele (a 17 Fev. 915) — Flajelados inteiramente ausentes do tubo dijestivo.

—ANASTACIA—

Sacrifiquei 3 larvas nela alimentadas, um mez e meio após (18-Fev. 915); 4 larvas, quasi 3 mezes depois (29-Março 915) e uma larva ao cabo de 4 mezes e meio (18-Maio 915) —. Flajelados ausentes do tubo dijestivo de todas.

—CÃO Nº 2—

Sacrifiquei 6 larvas, quasi 2 mezes após a alimentação nesse animal (24-Fev. 915) e uma larva ao cabo de quatro mezes e meio (18-Maio 915) —. Flajelados ausentes.

—TERTULIANO—

Examinei 1 larva, quasi 2 mezes após a alimentação neste habitante (24-Fev. 915); os flajelados eram ausentes do tubo dijestivo; sacrificando 2 larvas a 1-Março 915, trez mezes após a alimentação, *em uma delas encontrei flajelados*, que corados pelo Giemsa e pelo Heidenhain, eram morfolojicamente identicos aos vistos nos barbeiros das cafuas; a 12-Junho 915, cinco mezes e dias após, sacrifiquei uma ninfa e um adulto; a ninfa nada continha, mas o *adulto apresentava infeção por flajelados, tão intensa como a que se vê nos adultos das cafuas; as formas de tripanosomo eram particularmente abundantes;* inoculei 3 cobaias com essas fezes; elas se infetaram. *Assim, Tertuliano foi capaz de infetar 40 % dos barbeiros que nele se alimentaram, uma só vez.*

—GATO Nº 1—

Sacrifiquei 6 larvas ao cabo de trez mezes (2 — Março 915) e duas. outras, dias depois (13 — Março 915) Flajelados ausentes.

—PETROLINA—

A 13 — Março 915 examinei 5 larvas sem encontral-as infetadas; a 18 Maio 915, cinco mezes e dias, portanto, após a alimentação nesse habitante, examinei mais 2 larvas, presumivelmente de 4ª edade — *em uma delas o tubo dijestivo apresentava grande quantidade de flajelados*, morfolojicamente identificaveis aos que parasitam os barbeiros das cafuas e que fazem parte do ciclo do *T. cruzi.* Petrolina infetou 14 % dos barbeiros que a sugaram 1 unica vez.

—SIMPLICIA—

Trez larvas examinadas a 13 Março 915 e uma a 18 Maio 915, não se achavam infetadas.

—CÃO Nº 3—

Examinei, sem encontral-as infetadas, 5 larvas a 29 Março 915.

— GATO N° 2 —

A 16 Abril—915 (quatro mezes após a alimentação neste animal) examinei 1 larva; *apresentava numerozos flajelados, o conteudo do seu tubo dijestivo;* a 12—Junho—915 sacrifiquei duas larvas, presumivelmente, de 3ª edade; *uma delas apresentava intensa infeção por flajelados*, identica a que se vê nos barbeiros das cafuas; havia critidias e raros tripanosomos. Este gato foi capaz de infetar 66 % dos barbeiros que nele só fizeram uma alimentação.

O resultado da experiencia foi o seguinte: dos 10 vertebrados que serviram de repasto aos barbeiros desta cafua, 3 eram capazes de infetar barbeiros novos, após uma refeição unica.

Generalisando o que observámos, podemos compreender a infeção em alta percentajem dos barbeiros das cafuas da rejião e o motivo pelo qual o parasitismo tem relação com a edade do inseto.

Ficamos, pois, conhecendo que os reservatorios de virus de grande importancia, são, nas cafuas, o homem e o gato. Esses vertebrados são, com efeito, capazes de infetar 66 % (gato), 40 % (Tertuliano) e 14 % (Petrolina) dos barbeiros que os sugaram uma só vez. CHAGAS já tinha verificado diretamente a infeção dos gatos das cafuas pelo *T. cruzi* e mostrado a sua importancia como reservatorio de virus.

Devemos, agora, referir o que pensam a respeito alguns observadores.

BRUMPT, (1914) cita as observações de MACHADO e nossas sobre o canibalismo nas triatomas e outras especies deste hemiptero, achando que essas particularidades biolojicas devem ter importancia na conservação dos tripanosomos fóra do hospedeiro vertebrado.

Repetiremos que o coprofajismo não existe positivamente nas especies de triatoma com que estamos habituados a lidar *(T. megista* e *T. sordida);* quanto ao canibalismo, diremos que ás suposições de BRUMPT sobre a sua importancia, faltam observações; as que fizemos e que citamos no decurso deste artigo, parecem, ao contrario, excluir qualquer intervenção desse habito no ciclo do flajelado de que o barbeiro é o transmissor.

Na zona, era observado (MACHADO) o seguinte fato curioso: quando em uma cafua eram encontrados alguns barbeiros infetados, verificava-se que a infeção existia em alta percentajem, sendo presente na quasi totalidade dos insetos; em outras cafuas, cujos vertebrados aparentemente se apresentavam em condições identicas de morbidez, alguns barbeiros não continham flajelados e mesmo que se examinasse grande quantidade de insetos ai colhidos, não se podiam encontrar flajelados. O fato é plenamente explicavel agora.

Sabemos que a infeção é devida exclusivamente ao vertebrado; nem todos, porém, embora com sintomas morbidos identicos, gosam de poder infetante; assim, na nossa observação vemos Simplicia e Tertuliano, que são ambos casos tipicos da forma cardiaca da molestia de CHAGAS, um infetando (Tertuliano) os barbeiros, e outro não gosando desse poder infetante (Simplicia). Si admitirmos que, em certa cafua habitada por individuos infetados pelo *T. cruzi*, onde os barbeiros sejam parasitados por flajelados, esses vertebrados percam passajeiramente o poder infetante, sucederá que ao cabo de, aproximadamente 386 dias, tempo de vida do inseto (NEIVA), ver-se-á a ocorrencia curiosa de hospedeiros transmissores, de cafuas habitadas por doentes da molestia de CHAGAS, serem absolutamente indenes de infeção por flajelados. Certas formas da molestia de evolução benigna, entre outras, aquela em que o ataque á glandula tireoide (bocio) constitue o sintoma morbido predominante, a capacidade de infetar barbeiros deve ser bastante reduzida e o seu papel, como reservatorio de virus, muito secundario.

Nossas verificações mostram ainda que, as intelijentes sujestões de BRUMPT, a respeito do diagnostico da molestia, são plenamente justificadas pelos fatos. Em ar

tigo publicado no Bull. de la Soc de Pathologie exotique. n: 10, T. 7, p. 706—1914, o eminente parasitolojista cita curiosas observações sobre o diagnostico de tripanosomiases de batraquios e cobras, pela evolução nos hospedeiros transmissores—processo de diagnostico que chama—*xenodiagnostico*—. Poude BRUMPT, por esse processo, verificar a infeção, por um tripanosomo, de cobra, cujo sangue, examinado 5 vezes, não mostrou parasitos; faz depois considerações a respeito das aplicações praticas que o fato pode ter e acha, notadamente, que para o diagnostico da molestia de CHAGAS é bom tentar o xenodiagnostico com larvas ou ninfas de triatoma, todas as vezes que os outros meios não forem aplicaveis ou derem resultado negativo. Tentando esse processo em doentes da molestia que, quando foi a Lassance, lhe forneceu o Dr. CHAGAS, não conseguiu resultado positivo; alimentando, porém, no laboratorio, larva de 3o estadio de *T. megista* em cobaia inoculada com *T. cruzi*, mas cujos tripanosomos não eram visiveis ao exame microscopico, conseguiu infetal-as.

Tambem queremos relatar aqui uma observação curiosa (v. Obs. III) que pudemos fazer em Lassance e que é sobremodo ilustrativa, do perigo extremo, obvio por si mesmo, que ha para o homem em pernoitar em cafua, onde existam barbeiros infetados. Uma creancinha de ano e mezes que morava em Lassance, em cafua onde não havia barbeiros, apanhou infeção aguda, da qual veiu a falecer, em cafua dos arredores onde eles, infetados, eram presentes em grande quantidade. E' dificilimo, assim, que habitantes da rejião (população rural) escapem á infeção pelo *T. cruzi*. Pode-se mesmo afirmar que todos são infetados (CHAGAS) logo nas primeiras edades. Nos nucleos, onde os preceitos hijienicos vão pouco a pouco sendo observados, particularmente no que respeita á construção das casas, os barbeiros se tornam cada vez mais escassos e tendem a desaparecer (CHAGAS), sendo assim efetuada a profilaxia inconciente da molestia. Exemplo disso é Lassance.

Experiencia I

Larvas de *T. megista*, infetadas em um mico com *T. cruzi* no sangue periferico a 11 Agosto—914 sugaram um gato a 27—Fev.—915, e logo após defecaram no tubo de vidro onde se achavam. Antes que as fezes secassem, juntámos agua fisiologica, e o liquido obtido, ao microscopio, mostrava flajelados. Retirámos essas larvas do tubo de vidro e nele colocámos então, larvas de *T. megista* creadas em pombo e indenes de infeção; algumas, crecidas e nos ultimos estádios larvarios, procuravam sugar o dedo de quem mantinha o tubo, atravez das paredes de vidro, humidas, e sujas de fezes.

Foram abandonadas no tubo humido e sujo e tiveram muita oportunidade de se contaminar por fezes.

Sugaram um pombo a 1—Março—915. Quasi 2 mezes após, a 13—Abril 915, examinámos o conteudo do tubo dijestivo de 7 larvas. Flajelados eram completamente ausentes.

Experiencia II.

Ninfas e larvas de *T. sordida*, colhidas na cafua do *Cyrineu* (Lassance) e que não eram infetadas por flajelados. foram a 14—Janeiro 915, juntadas em um cristalizador a adultos de *T. megista*, vindos da cafua da *Simplicia*, e todos muito infetados por flajelados.

A 12—Fevereiro 1915, o cristalizador, cujo fundo de papel estava muito sujo de fezes, continha apenas ninfas de *T. sordida*.

As *T. megista* adultas haviam todas morrido; uma ninfa de *T. sordida* fizera a ultima ecdize e era adulta.

Examinei 14 individuos de *T. sordida* (10 ninfas, 3 larvas e 1 adulto); o tubo dijestivo não mostrava flajelado algum.

Experiencia III.

Uma ninfa, cujo tubo dijestivo contem em abundancia flajelados, que reproduzem a tripanosomiase, quando inoculados a animal sensivel foi incapaz de infetar, pelo liquido da cavidade geral, larvas que nela fizeram refeição canibal em tempos diferentes de sua dijestão; mostra tambem, a experiencia que larvas de alimentação excluzivamente canibal, podem seguir sua evolução normal.

A 1-Julho-914 uma ninfa de *T. megista*, vinda de Andrequicé (N. de Minas), foi posta

a sugar um pombo; a refeição. que começou ás 10 h. e 45 m. da manhã, terminou uma hora após. O abdome deprimido antes, apresentou-se em seguida elipsoide, enormemente distendido. Segundos após terminar a refeição, a ninfa defecou e as fezes, examinadas, ricas de flajelados (critidias e tripanosomos) foram inoculadas pela mucosa oculai a uma cobaia, cujo sangue examinado a 27-Julho-914, continha o *T. cruzi.*

Transportada, ás 12 hs., a ninfa para um frasco de boca larga forrado de papel filtro, a ela foram juntadas 13 larvas, famintas, de *T. sordida*, nacidas no laboratorio. Colocado o recipiente em lugar escuro e humido, verificámos qne, uma hora após, já 3 larvas tinham feito canibalismo; o aspeto do abdome nelas é muito carateristico e diferencia-se com facilidade, do de uma que fez hematofajismo; com efeito, neste ultimo caso, ele tem cor vermelho-negra — a cor do sangue vista atravez das paredes de quitina, semi-transparentes —; no caso de refeição canibal, o abdome dá a impressão de empola de paredes finas roseo amareladas, enormemente distendidas por liquido limpido.

O recipiente foi examinado ás 6 horas da tarde. Das 6 larvas que haviam feito refeição, 4 apresentavam o abdome em distensão consideravel. Foram retiradas e colocadas em recipiente á parte (vidro 2, caixão 2). Dessas larvas, que foram dai em diante creadas em pombo, dois mezes após, a 15 — Setembro 914, nenhuma continha flajelados no tubo dijestivo. As 7 larvas restantes do lote inicial foram de novo colocadas junto da ninfa; examinando o vidro 40 horas após, ás 10 horas da manhã de 3—Julho 914, verificámos que apenas uma larva mais, havia feito canibalismo; foi colocada em tubo á parte (vidro 3, caixão 2) e, examinada a 15 — Setembro 914 não continha flajelados. Das 6 restantes, 3 amanheceram mortas e as outras 3, que se obstinavam em não fazer canibalismo, foram de novo deixadas em contato com a ninfa. Examinando o vidro 24 horas após (11 da manhã de 4 — Julho 914), verificámos que 2 larvas se haviam alimentado. Foram colocadas em vidro á parte (vidro 4, caixão 2) e dai em diante alimentadas em pombo; a 15 — Setembro 914, 2 tendo feito algumas ecdizes, foram sacrificadas. Flajelados não foram encontrados no seu tubo dijestivo. A larva restante foi deixada em contato com a ninfa e dias após fez canibalismo. Esta larva que permaneceu muitos dias em contato com a ninfa, provavelmente fez mais de 1 refeição canibal; isolada após essa refeição e nunca tendo sugado vertebrado, havia contudo efetuado a ecdize a 15-Setembro 914, dia em que foi sacrificada; o conteudo do seu tubo dijestivo era isento de flajelados.

A ninfa, até 2 hs. da manhã de 4-Julho, isto é, durante toda a experiencia de canibalismo não defecou; o papel de filtro que forrava o vidro permaneceu limpo até então.

Experiencia IV.

Larvas que fizeram canibalismo em diferentes insétos parasitados, não se infetaram.

— Larvas de *T. sordida* naceram em cristalizador, onde conservavamos numerosos exemplares em todos os estádios evolutivos de *T. megista* e *T. sordida.* A 15-Setembro 914 examinei o conteudo do tubo dijestivo de 26, que haviam feito refeição canibal, o que se depreendia, não só pelo aspeto carateristico do abdome, como pela impossibilidade de encontrarem sangue para sugar. Flajelados ausentes. Os exemplares de *T. megista* e *T. sordida* que lhes forneceram alimento, eram bastante infetados por flajelados.

Observação I.

Barbeiros de varias edades e da mesma procedencia, só se apresentam infetados nos ultimos estádios evolutivos.

Lote de barbeiros, colhido em uma só cafua dos arredores de Lassance (Cafua da *Simplicia)* a 12 — Nov. — 914. Constava de 16 larvas, algumas ninfas e adultos de *T. megista.* Das larvas, 11 que ainda não tinham efetuado a primeira muda não apresentavam flajelados no tubo dijestivo; dessas, 7 haviam feito, com segurança, refeição hematofaga, as

outras 3 aparentemente nunca se haviam alimentado. As outras larvas, que tambem não estavam parasitadas, eram, o quanto é possivel presumir, 2 de segunda edade, e as outras, pouco maiores.

De 3 adultos examinados (2 ♀♀ e 1 ♂), o tubo dijestivo de 2 (♀ e ♂) apresentava quantidade colossal de flajelados (critidias e tripanosomos).

Observação II.

Larvas novas, na natureza, são indenes de infeção, mesmo nas casas em que as ninfas e adultos são intensamente parasitados.

A—Lote de larvas de *T. megista*, colhido em uma só cafua dos arredores de Lassance (cafua da *Simplicia*) a 1—Nov.—914.

Disseção das larvas:

—1 larva de 1ª edade; o exame do conduto dijestivo, revelando evidente refeição hematofaga, foi negativo, quanto á presença de flajelados.

—4 larvas de 1ª edade: é dificil dizer se fizeram refeição; o canal intestinal, no entanto, contem fezes; parecem larvas que acabaram de desalagar. Flajelados ausentes.

—2 larvas de 1ª edade; o ventriculo quilifico contem sangue coagulado. Flajelados ausentes do tubo dijestivo.

—4 larvas, presumivelmente de 2ª edade; flajelados ausentes do tracto dijestivo; uma delas contem sangue coagulado no ventriculo quilifico.

—2 larvas maiores—. Flajelados ausentes do tracto dijestivo.

Em nenhuma das larvas dissecadas o abdome tinha o aspeto carateristico do das larvas que fizeram refeição canibal.

Os adultos de *T. megista* da referida cafua, são, na quasi totalidade, infetados por flajelados.

B—Lote de larvas de *T. megista* colhido a 12—Nov.—914 em uma cafua dos arredores de Lassance (cafua da *Simplicia)*. Constava de 11 larvas de 1ª edade, 3 presumivelmente de segunda, e 2 pouco maiores. Flajelados ausentes do tracto dijestivo de todas; a *disseção demonstrou, em muitas, evidente hematofajismo.*

A cafua da *Simplicia* nos fornecia seguidamente material; as triatomas adultas, ou nas edades de ninfa e de larva em periodo adiantado de evolução, eram constantemente e de modo intenso, parasitadas por flajelados.

Observação III.

Em grande cristalisador de vidro da capacidade de 25 litros, fechado por tela de arame de malhas muito finas, mantinhamos grande coleção (cerca de 150) de triatomas, das especies *T. megista* e *T. sordida*, capturadas em cafuas diferentes dos arredores de Lassance. Em muitas delas, que davam habitualmente material para o nosso laboratorio, a quasi totalidade dos insetos era infetada por flajelados, que, inoculados a micos e a cobaias, constantemente forneciam culturas *in vivo* de *T. cruzi*. Com o fito de melhorar as condições de vida e crear ai ambiente muito propicio á existencia dos hematofagos, certas precauções foram tomadas. Assim, o cristalisador foi mantido em sala escura e humida, e, uma armação de madeira ai deposta, proporcionava aos animaes numerosas frestas e recantos obscuros, que afeiçoam; eram regularmente alimentados em cobaias indenes de qualquer infeção.

Desse modo, durante muito tempo, ficavam os barbeiros em nosso poder. Dos ovos depostos, naciam larvas, que seguiam sua evolução normal. Novos continjentes de barbeiros infetados, que ai introduzimos, ofereciam-nos, a miudo, as cafuas da visinhança; eram capturados pelos proprios habitantes, barbeiros mais ou menos crecidos, nas ultimas edades de larva e nas de ninfa e imajem.

E' claro que as larvas que naciam desses ovos, que se creavam no cristalisador, deviam correr probabilidades de infeção, caso essa se desse pelo contato com fezes contaminadas, no minino tão numerosas quanto as que se devem realizar na natureza; pois bem, *as larvas em questão, creadas e sacrificadas em edades diferentes, nunca se mostraram infetadas por flajelados.*

Observação IV.

Em cafua situada em Lassance morava 1 familia, da qual faziam parte creanças entre 8 anos e ano e mezes; não eram da zona, mas impaludados das marjens do S. Francisco, que vieram á procura de socorros da Comissão Medica. Achavam-se em Lassance ha um ano e mezes, sempre sob as vistas da Comissão, quando, a 2—Janeiro 915 foi trazida á consulta a menina Geraldina, de 1 ano e 10 mezes de edade. Apresentava os sintomas clinicos tipicos dos casos agudos da molestia de Chagas. Dela examinámos o sangue a fresco, encontrando o *T. cruzi*. Imediatamente quizemos aproveitar a rara oportunidade de estudar as condições do inseto transmissor na cafua onde havia atualmente um caso agudo e dirijimo-nos com a doente a sua casa; ai chegando, fizemos rigoroza busca em todos os compartimentos da cafua, arrancando em diferentes pontos, quer no interior, quer na parte de fora, torrões de barro das paredes, á cata de barbeiros, sem encontral-os; já a pesquiza nos páus das camas, roupas, etc. tinha sido negativa. Não conseguimos de modo algum perceber como se teria dado a infeção da doentinha, dada a ausencia absoluta do transmissor. Indagando com insistencia da mulher, soubemos então, que havia 15 dias mais ou menos, tinha ido visitar a cafua do *Clarindo*, situada em St. Maria, a 1 legua de Lassance e que ai havia dormido uma só noite, tendo levado a menina Geraldina e outra creança de 3 anos de edade; ora, conheciamos as condições dos barbeiros da cafua do *Clarindo*, pois dai provinham muitos desses hemipteros para o laboratorio e sabiamos que eram intensamente parasitados; a 2-Janeiro 915 obtivemos dai uma partida de 76 barbeiros, que confirmou o que já sabiamos.

A menina infetára-se, portanto, após uma noite de permanencia na cafua; veiu a falecer a 7-Janeiro 915.

Mecanismo de transmissão da molestia de Chagas.

Quizeram investigadores que, na transmisão da molestia, certas ocorrencias acidentaes assumissem a importancia de cauza eficiente.

Baseados em que os barbeiros, no laboratorio, defecavam imediatamente após a refeição, supuzeram uns que o homem sugado determinava com as unhas escoriações no tegumento cutaneo: portas de passajem ao virus, trazido pelas fezes ai depostas. Fundamentados outros na permeabilidade das mucosas ao tripanosomo, imajinaram um acidente mais minucioso—o barbeiro lançava a sua dejeção justamente ao nivel dos olhos ou da boca do paciente; havia infeções na rejião de barbeiros infetados, não porque estes picassem os individuos, mas porque, após a refeição, defecassem diréta ou indiretamente em seus olhos ou boca.

Explicação diversa era dada por alguns mais, para a infeção muito frequente, dos tatús pelo *T. cruzi*. O suposto conjunto de acidentes era de realização particularmente dificil nesse mamifero. Era ele, porém, um insetivoro: infetava-se, pois, pelas mucosas do conduto dijestivo.

Assim, na molestia de CHAGAS, o processo excluzivo de infecção (BRUMPT) era pelas dejeções, mercê de lesão escoriativa do tegumento, provocada pelas unhas da vitima, ou por inoculações inconcientemente realizadas pelo barbeiro por determinada via (via mucosa).

Tal e qual surjirá a questão, a quem, guiando-se pelos trabalhos de BRUMPT, neles não quizer indagar do que é fato e do que é hipoteze.

Partira do laboratorio a teoria de BRUMPT; vejamos precisamente qual o apoio experimental que ai tinha. Graças a cuidadosa busca, de seus trabalhos colijimos o que adiante é relatado. Excluimos, é claro, tudo o que é possibilidade e não verificações; só estas têm valor, e as que apresentamos, como é facil verificar pelas indicações bibliograficas, foram as que permitiram a BRUMPT chegar ao que chama «esclarecimento do processo de infeção na molestia de CHAGAS».

Em seguida exporemos as nossas experiencias e depois faremos a comparação, exa-

minando se têm ambas o mesmo valor, como base de laboratorio.

No artigo de BRUMPT, E. e PIRAJA' DA SILVA — (1912) as verificações relatadas são: — 2 experiencias de infeção pela picada, negativas, uma feita em cobaia, outra em cão.

No artigo *Pénetration du Shizotrypanum cruzi à travers la muqueuse oculaire saine* — as verificações relatadas são:

1º. — um macaco (*Cercopithecus ruber*) sugado por varios *C. megistus*, não se infetou; o mesmo sucedeu a outro sugado por *Cimex lectularius*; os insetos apresentavam, em ambos os casos, dejeções infetuosas.

2º. — depositando sobre a mucosa ocular sã de *Cercopithecus ruber*, fezes contaminadas, ele se infetou pelo *T. Cruzi*.

3º. — experiencias feitas no macaco e no rato com as dejeções depostas sobre a pele, foram negativas; as dejeções se desecavam muito rapidamente e os tripanosomos morriam; admite que só pela existencia de alguma escoriação, seria possivel a infeção.

Outras verificações a respeito são apresentadas noutro trabalho de BRUMPT (1913) e são elas:

1º. — dejeções de *Triatoma* depostas ao nivel da boca ou reto de camondongos em amamentação e cujas mucosas provavelmente não tinham escoriações, infetam-nos seguramente.

2º — depondo dejeções contaminadas sobre a péle de 11 camondongos de 2 dias de edade (Exp. 509), e suspendendo-os por meio de 1 fio, durante 3 horas em atmosfera humida, afim de evitar a rapida desecação das fezes dos barbeiros, que é de regra, e, lavando-os cuidadosamente finda a experiencia, obteve 1 infeção positiva em um camondongo, entre onze.

No trabalho — *Evolution du T. Lewisi. Duttoni, Nabiasi. Blanchardi chez les puces et les punaises. Transmission par les dejections. Comparaison avec T. cruzi* — Bul. Soc. Path. Exot. 1913, pp. 167 — procura demonstrar a importancia das dejeções na transmissão dessas tripanosomiases dos pequenos roedores. Declara que os ratos se infetam. lambendo o pelo, ou comendo as pulgas.

Não é facilmente comparavel este mecanismo com o que supõe para a molestia de Chagas. Se quer BRUMPT salientar a importancia das fezes nas tripanosomiases, não podem se extender, seguramente, as suas crenças comparativas a certas tripanosomiases, como as transmitidas pelas glossinas. Engana-se para o caso do *T. cruzi*, porque para ele, como demonstraremos, muito mais importante é a transmissão pela picada, de que BRUMPT não cojita.

Pelo que se deduz, é o seguinte o fato experimental sobre que se apoia a hipotese de BRUMPT — permeabilidade das mucosas ao *T. Cruzi*. As suas experiencias são absolutamente probantes a esse respeito. O *T. Cruzi* é capaz de atravessar as mucosas intatas. Muitos outros germes, aliás, franqueiam essa frajil barreira com facilidade. Todas as experimentações de BRUMPT tendem a demonstrar essa facilidade de penetração.

Quanto á penetração pela pele, a sua experiencia ensina que, supondo absolutamente intata a pele de animal nacido de pouco e tomadas precauções para que as fezes. no espaço de 3 horas, não se desequem, em uma experiencia, foi factivel a infeção de um animal entre 11. Não se usando de artificios, (é o caso da transmissão natural), as fezes depostas sobre a pele de ratos e macacos (BRUMPT) se desecam muito rapidamente e os tripanosomos morrem; seria indispensavel a existencia de lesão do tegumento para se dar a infeção (BRUMPT.).

Passemos agora a outra serie de verificações.

As experiencias de transmissão pela picada, bem conduzidas, que fizemos, são em numero de 18; em 3 delas o animal se infetou; 15 foram negativas.

Muitas causas pertubadoras, segundo pouco a pouco nos foi ensinando a experiencia, podem intervir nesse genero de pesquizas e falsear as apreciações. Já o animal sugado tem importancia consideravel; a cobaia como viram outros ainda (CARINI, NEIVA),

pode, com efeito, apresentar infeção muito fugaz ou mesmo não ter absolutamente tripanosomos no sangue, embora ao exame histolojico se mostre animal infetado; esse é o caso, p. exemplo, para a nossa Exp. de transmissão pela picada nº 3. Numero pequeno de tripanosomos introduzido, pode ser aniquilado em virtude dos processos naturaes de defesa, nomeadamente os desempenhados pelos leucócitos.

O exame histolojico, mesmo, a não ser que seja exaustivo, não é garantia rigorosa de ausencia de infeção. A cobaia, em resumo, não é animal propicio. O sagui e particularmente o gato, quando animais jovens, devem ser preferidos.

Neles, aliás, essas causas de erro não são totalmente excluidas.

Outra vem de que os animais podem morrer cedo; a infeção não disporá de tempo amplo para evolver e será assim dificilmente demonstravel. Por isso, as experiencias não podem ser consideradas como negativas nos casos em que a morte do animal ocorreu antes de 15 ou 20 dias de experiencia.

As experiencias bem conduzidas são em numero de 18, como dissemos; em todas, os barbeiros sugavam o animal uma vez unica, sendo tomadas disposições que evitavam contato outro que ao devido ao rostro. Os animais foram: 8 gatos, 5 saguis e 5 cobaias.

Damos a seguir o protocolo das experiencias positivas.

Excusado é dizer que durante toda a experiencia os animaes eram conservados em gaiolas protejidas por meio de telas de arame e ao completo abrigo de qualquer contato com triatomas que por acaso pudessem aparecer. Esta precaução foi tomada por excesso de precaução visto como não havia triatomas livres no laboratorio em que trabalhavamos.

Experiencia de transmissão pela picada nº. 1. — Gato novo (1 mez de edade).

Foi sugado, a 28-Junho 1913, durante o dia, por 19 *T. megista* (6 adultas e as restantes ninfas).

A 21-Julho 913 apresentava raros individuos de *T. Cruzi* no sangue examinado entre lamina e laminula.

Precauções tomadas — Os barbeiros foram colocados em tubos de ensaio estreitos (1 por tubo), onde não podiam fazer uma volta completa; apenas o rostro que atravessava as estreitas malhas da gaze entrava em contato com o animal.

Informações — Os barbeiros empregados faziam parte de um lote de 50 exemplares trazido ao laboratorio de Lassance a 27 de Junho 1913 por João Batista, morador em Muquem; de 10 exemplares examinados (1 adulto e 9 ninfas), 8 apresentavam numerosos flajelados no intestino posterior.

Experiencia de transmissão pela picada nº. 2 — Gatinho de 4 dias de edade.

Foi sugado a 16-Setembro 1914 por 13 larvas de *Triatoma megista*, quasi todas presumivelmente de 3ª. algumas de 2ª. edade. Essas larvas, nacidas no laboratorio, foram infetadas em um caso agudo da molestia de Chagas (Paulo) a 12-Fevereiro-1914. O sangue do gato examinado a 24-Setembro 1914, apresentava raros individuos de *T. cruzi*; a infeção era notavel a 28-Setembro 1914; viam-se em alguns campos 2 a 3 tripanosomos.

Precauções tomadas:

— Os pelos do animal não foram cortados, nem raspados.

— As larvas foram alimentadas por turmas de 5, no maximo, afim de tornar facil a vijilancia por quem segurava o tubo.

— O tubo de vidro foi fechado por dupla parede; era obturado por gaze e por sobre a gaze dispunhamos um pedaço de tela de arame de malhas muito finas que formava ao tubo um capacete obturador; esse dispositivo creava certo

espaço entre a larva e a pele do animal; a larva só a alcançava graças á extensão do rostro. Tambem, tornava o dispositivo facil a verificação de acidente; com efeito, a gaze existente internamente acusaria qualquer dejeção, se ela se produzisse.

— As larvas nunca faziam refeição completa; nessas condições não defecavam na ocasião de se alimentar.

Experiencia de transmissão pela picada nº. 3.

Cobaia sugada a 30—Junho—1914 por 7 *T. megista* adultas, capturadas na cafua da *Simplicia* e com infeção natural por flajelados. A pesquiza do tripanosomo no sangue foi de continuo negativa, vindo a cobaia a morrer a 8—Setembro—1914.

O coração, retirado para inclusão em parafina, mostrou ao exame histolojico aglomerados de fórmas redondas de *T. cruzi*.

Precauções tomadas:

— Os pelos do animal não foram cortados nem raspados.

— Os barbeiros foram introduzidos em tubos de cultura estreitos (1 por tubo) fechados por meio de gaze e onde não podiam fazer volta completa; só o rostro entrava, assim, em contato com a péle.

Ficou sobejamenta demonstrado, graças ao rigor das experiencias, que os barbeiros são capazes de infetar o animal exclusivamente pela picada.

Com efeito, apezar da impossibilidade de afastar causas contrarias poderosas, 3 experiencias foram positivas de 18 que efetuámos.

Se fizermos a comparação entre elas e o que se passa na natureza, veremos que ali as probabilidades de sucesso de infeção por picada, são consideravelmente minoradas. Os barbeiros em cada experiencia são pouco numerosos e, sobretudo, fizeram uma refeição unica. Nas cafuas, bem lonje disso, cada mamifero receberá, diariamente, numero dificil de precisar de picadas. Apanhou ele, de fato, a desagradavel prebenda de alimentar parte da densissima colonia de heteropteros hematofagos.

O caso do gato, que é animal habitualmente infetado, sendo nas cafuas um dos depositarios de virus, segundo verificações de CHAGAS e nossas, muito a proposito permite curiosas sujestões.

Para a infeção deste animal, claramente se pode avaliar do quanto são pouco aceitaveis as ideias de BRUMPT. A infeção pela inoculação de fezes por via mucoza não vem ao caso, assim como a penetração de flajelados pela pele; com efeito, é sabido que as fezes de barbeiros depostas sobre a pele de ratos e macacos, se desecam muito rapidamente e os tripanosomos morrem; é impossivel nessas condições infetar esses mamiferos (BRUMPT). E', pois, evidente a facilidade de infeção pela picada, no gato, repasto habitual dos barbeiros. Com efeito, tendo efetuado 8 experiencias com este animal, obtivemos 2 infeções positivas exclusivamente pela picada.

Ha nesta questão, pois, duas ordens de argumentos que foram aprofundados e que vão ser agora contrapostos. De um lado, são apresentadas experiencias, em que a transmissão da tripanosomiase foi — a precizão de tecnica sendo disso sobeja garantia — devida excluzivamente á picada do hematofago; são experiencias precisas, rigorosas e que não podem sofrer incriminações. De outro lado, o que se apresenta como processo exclusivo de transmissão ? Observações em que o animal se infeta, quando inoculado pelas mucosas. A experiencia de penetração pela pele peca pelo artificio que foi usado — as fezes, que se desecam muito depressa foram impedidas de assim fazel-o durante 3 horas — alem disso não póde haver rigôr na afirmação de que a pele do animal, muito novo, era perfeitamente intata.

Não são argumentos equivalentes.

Se a transmissão da molestia de Chagas se acha subordinada a um acidente, achamos que os que assim o afirmam deveriam tentar experiencias onde essas ocôrrencias aci-

dentais fossem levadas em linha de conta, e se reproduzisse o quadro que pintaram para a natureza.

Finalizando, crumpre-nos declarar que acreditamos que o processo de transmissão pela picada se acha na dependencia de estádio evolutivo do *T. cruzi* no invertebrado; é um processo biolojico. O ciclo do *T. cruzi* no invertebrado é, porém, dos problemas que exijem tempo dilatado de consulta, além de observação e trabalho consideraveis, e está ainda bem lonje de ser questão fechada, como querem parasitolojistas.

Tatú como depositario de virus no mundo exterior.

Interessante foi a verificação de CHAGAS, de especie diferente de barbeiro — *Triatoma geniculata* LATR., que vivia em buracos de tatú, e aparecia parasitado por flajelados do ciclo do *T. cruzi*.

Ainda mais curiosa, ficou sendo o estatuido pouco depois. Era o *T. cruzi*, com efeito, encontrado em *Tatus novencinctus* L.

A organisação atrazada do mamifero *Dasypodidae* indica, senão especie zoolojica de consolidação muito remota, pelo menos animal que, de épocas dilatadas se antecipara ao homem na habitação das rejiões do interior do paiz.

Investigações subsequentes demonstraram quão elevada era a frequencia de infeções nos tatús.

E não era só *Tatus novencinctus* L., mas ainda *Dasypus sexcinctus* L. (Tatú peba) e *Dasypus unicinctus* L. (Tatú bola), hospedeiros do *T. cruzi*.

Não habitavam tambem, unicamente, as proximidades de Lassance os mamiferos infetados.

Pouco a pouco chegavam outros, capturados em rejiões afastadas, inteiramente deshabitadas.

Depois, em pontos do continente em que a molestia não havia ainda sido assinalada no homem, já se encontravam tatús infetados. O Dr. ASTROGILDO MACHADO, a quem agradecemos a informação, encontrou-os, quando em excursão cientifica pelo interior do Estado de Matto-Grosso, a seis leguas de distancia das marjens do rio Paraguay, em rejião deshabitada.

A *Triatoma geniculata* é o heteroptero cuja adaptação biolojica no buraco do tatú até agora, está bem estabelecida (CHAGAS). Possivelmente a *T. chagasi*, que BRUMPT e GOMES encontraram em lócas de mocós, quando a 25 — Junho 1914 com o Dr. CHAGAS e nós visitaram a Serra do Cabral, tambem será um hospedeiro intermediario do *T. cruzi* do tatú. Com efeito, aqueles observadores encontraram flajelados do ciclo do *T. cruzi* no *tractus* dijestivo de 1 exemplar adulto femeo capturado em grande rochedo á entrada de uma lóca de mocó. Tivemos oportunidade de visitar as referidas lócas, dias após BRUMPT e GOMES.

Eis algumas notas da excursão feita em 27 — 29 — Junho 1914.

— Foram capturados 11 mocós. Cuidadosa pesquiza de *T. cruzi* no sangue foi negativa. Fixados coração e musculos para pesquizas histolojicas. Microfilarias no sangue de 2. Um mocó ♀ continha no utero embrião unico.

No trabalho—*Immunité partielle dans les infections a Trypanosoma Cruzi, transmission de ce Trypanosome par Cimex rotundatus. Rôle regulateur des hôtes intermediaires. Passage à travers la peau.*—Bul. Soc Path exot. 1913 . p. 173 BRUMPT, em nota, diz: "*Cimex rotundatus* est la punaise des lits du Brésil et des regions intertropicales, elle doit jouer dans la nature un rôle peutêtre aussi considérable que les *Conorhinus megistus*, Elle jouera un rôle peut-etre aussi considérable que ce Hemiptère dans la propagation de la maladie à distance."

Nada mais inexato do que essa afirmação. Na zona de nossos trabalhos, as cafuas, ao lado de densa população de barbeiros, continham ainda quantidade notavel do que o povo ali chama "fin-fin" (*Cimex rotandatus*). Muitas vezes, nas cafuas onde os barbeiros eram infetados na sua quasi totalidade, examinámos os *Cimex rotundatus* ai existentes: nunca os encontrámos parasitados.

—Remessa chegada ao laboratorio a 6-Agosto 1914. Consta de 4 *T. megista* e 17 individuos, ninfas e adultos de *Cimex rotundatus*. Provem da cafua de Raymundo, em St. Maria (Lassance). O conteudo do tubo dijestivo dos 17 *Cimex* não apresentava flajelados; as triatomas continham numerosos flajelados no tubo dijestivo.

A pedreira onde BRUMPT e GOMES capturaram a *T. chagasi* dava guarida, além dos mocós a numerosos ratos, que com aqueles viviam em promiscuidade. A alimentação dos mocós provém, em parte, de 1 cacto espinhoso (t. p. na zona—figueira do inferno) que crece na propria pedreira.

Em excursão feita a 15—19—Outubro 1914 visitámos novamente o mesmo lugar. Foram capturados nas lócas 19 mocós e ratos de varias especies. O exame demorado do sangue a fresco, e bem assim, o feito posteriormente em córtes histolojicos do coração e musculos dos 30 mocós, não mostrou a presença do *T. cruzi.*

Comparada a isso, a frequencia de buracos de tatú, nesse planalto deserto, era evidente. A suposição de que os flajelados da *T. chagasi* provenham, na realidade, do depositario de virus da molestia de CHAGAS no mundo exterior—o tatú, é, por conseguinte, muito licita.

Não faremos aqui o estudo da «raça» de *T. cruzi* isolada deste animal. E' possivel que disso informe, oportunamente, outra publicação.

BIBLIOGRAFIA.

BRUMPT, E. et PIRAJÁ DA SILVA 1912 Existence du «Shizotrypanum Cruzi» CHAGAS, 1909, à Bahia (Matta de S. João) Biologie du «Conorhinus megistus.
Bull. Soc. Path. Exot. pp. 22.

BRUMPT, E. 1912 Shizotrypanum Cruzi à differentes phases de son cycle évolutif.
Bull. Soc. Path. Exot. pp. 261.

BRUMPT, E. 1912 Le Trypanosome Cruzi évolue chez Conorhinus megistus, Cimex lectularius, Cimex Boueti et Ornithodorus moubata. Cycle évolutif de ce parasite.
Bull. Soc. Path. Exot. pp. 360.

BRUMPT, E. 1912 Pénetration du Shizotrypanum cruzi à travers la muqueuse oculaire saine.
Bull. Soc. Path. Exot. pp. 723.

BRUMPT, E. 1913 Evolution de Trypanosoma Lewisi, Duttoni, Nabiasi, Blanchardi, chez les puces et les punaises. Transmission par les dijections. Comparaison avec T. Cruzi.
Bull. Soc. Path. Exot. pp. 167.

BRUMPT, E. 1913 Immunité partielle dans les inféctions à T. Cruzi. Transmission de ce Trypanosome par Cimex rotundatus. Rôle regulateur des hôtes intermediaires. Passage à travers la peau.
Bull. Soc. Path. Exot. pp. 172.

BRUMPT, E. 1914 Importance du cannibalisme et de la coprophagie chez les réduvidés hematophages (Rhodnius, Triatoma) pour la conservation des Trypanosomes en dehors de l'hôte vertébré Bull. d. l. Soc. d. Path. Exot. T. 7 n. 10 pp. 702.

BRUMPT, E. 1914 Le xenodiagnostic. Applications au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier à la Trypanosomose de CHAGAS.
Bull. d. l. Soc. d. Path. Exot. T. 7, n. 10 pp. 706.

BRUMPT, E. 1914 Trypanosomes humains. Discussion.
Bull. Soc. Path. Exot. pp. 722.

BRUMPT, E e GOMES, J. F. 1914 Descrição de uma nova especie de Triatoma.
Ann. Paulistas de Med. e Cir. Vol. III n. 4 pp. 73.

CHAGAS, C. 1909 Nova tripanozomiaze humana Mem. d. Inst. Osw. Cruz T. I, pp. 159.

CHAGAS, C. 1911 Nova entidade morbida do homem Mem. d. Inst. Osw. Cruz T. III, Fac. II pp. 219.

CHATTON, C. et. DELAMOE. P. 1912 Observations sur l'évolution et la propagation de *Crithidia melophagi* Flu.
C. R. Soc. Biol. T. 12 n. 21 pp. 942.

FANTHAM, H. B. 1912 *Herpetomonas pediculi* n. sp. parasitiç in the alimentary tract of Pediculus vestimenti, the human body-louse.
Proc. Roy. Soc. B. 84 pp. 505.

NEIVA, A | 1910 | Informações sobre a biolojia do Conorhinus megistus Burm. Mem. d. Inst. Osw. Cruz T. II Fac. II pp. 206.

PATTON, W. S. | 1908 | The life-cycle of a species of Crithidia parasitic in the intestinal tract of Gerris fossarum Fabr. Arch. f. Protk. B. XII pp. 131.

PATTON, W. S. | 1909 | Herpetomonas lygaei. Arch. f. Protk B. XIII pp. 1—18

PATTON, W. S. | 1909 | The life-cycle of a species of crithidia parasitic in the intestinal tract of Tabanus hilarius and Tabanus sp. Arch. f. Protk. B. XV pp. 333.

PORTER, A. | 1909 | The morphology and life-history of Crithidia gerridis, found in the british water-bug-Gerris paludum. Parasitology v. II pp. 348.

PORTER, A. | 1909 | The life-cycle of Herpetomonas jaculum (Léger) parasitic in the alimentary tract of Nepa cinerea. Parasitology v. II pp. 367.

PORTER, A. | 1910 | The structure and life-history of Crithidia melophagia. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 55 pp. 189.

RODHAIN, PONS, BRENDEN, BEQUAERT | 1913 | Leptomonas d'Asilides et trypanosomides intéstinaux de réduves et d'hemiptères phytophages au Katanga. Revue Zool. Afr. v. 2 n. 3 p. 291.

ROUBAUD, C. | 1912 | Experiences de transmission de Flagellés divers chez les muscides africains du Genre Pycnosome. C. R. Soc. Biol. T. I pp. 508.

SWINGLE, C. D. | 1 09 | A study on the life-history of a flagellate (Crithidia melophagi n. sp.) in the alimentary tract of the sheep-tick (Melophagus ovinus). Journ. of Inf. Diseases Vol. 6 n. 1 p. 98.